

Ana Carolina Martins

**PREVALÊNCIA DA SÍNDROME DE DELEÇÃO 16p11.2 EM UMA
COORTE DE PACIENTES COM DISTÚRBIOS DO
DESENVOLVIMENTO: ESTUDO DE QUATRO CASOS E
REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido à Universidade
Federal de Santa Catarina como
requisito para obtenção do Grau
de Bacharelado em Ciências
Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Dra.
Angelica Francesca Maris

Florianópolis
2017

“A ciência progride de duas maneiras: adicionando fatos novos e simplificando os existentes” (Claude Bernard)

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente e dedico este trabalho aos meus pais Mara e João Carlos Martins. Serei eternamente grata por todo apoio e incentivo dado durante todos os meus anos de vida. Seus ensinamentos e seu amor fazem parte do que sou hoje.

Agradeço à minha orientadora Prof. Dra. Angelica Francesca Maris por dedicar seu tempo e disposição para contribuir grandemente com este trabalho. Quero agradecer pelo conhecimento adquirido e pelo suporte durante todas as etapas deste processo.

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Neurogenética do Desenvolvimento, Tiago e Luan, por todo suporte psicológico e intelectual. Obrigada por terem me ouvido, me orientado e me auxiliado com muita paciência. Vocês são peças fundamentais na construção deste trabalho.

Agradeço as meninas do Laboratório Neurogene pelos 2 anos de companheirismo e aprendizado. Vocês foram essenciais para meu crescimento pessoal e profissional! Toda minha admiração e respeito por vocês.

Agradeço ao meu namorado Jonas por estar ao meu lado nos momentos de angústia, incerteza e cansaço durante a execução deste trabalho. Obrigada pela sua compreensão, atenção e cuidados. Te ter ao meu lado me trouxe calma e a confiança que tudo daria certo (e deu!). Gratidão!

Agradeço as minhas amigas de curso, Bruna Lobo e Jessica Link, pelos momentos compartilhados durante toda a graduação. Com vocês, esses 5 anos foram mais felizes!

Agradeço aos meus amigos de Florianópolis e de Curitiba pelos momentos de descontração e felicidade que vivemos juntos. Obrigada por estarem comigo nessa caminhada e por torná-la mais fácil.

Enfim, agradeço à todas as pessoas que me ajudaram neste processo de construção do conhecimento. Após esses anos, me sinto mais preparada para enfrentar as surpresas da vida, lidar com as adversidades e defender aquilo que acredito. Hoje, mais do que nunca, levo comigo a certeza que precisamos lutar diariamente por uma universidade pública de qualidade para todos (as)!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ideograma ilustrando o cromossomo 16 com destaque na região p11.2.

Figura 2 – Cariótipo com banda G mostrando um cromossomo 16 normal (esquerda) e um cromossomo apresentando uma extensa deleção na região p11.2 (direita).

Figura 3 – Ideograma ilustrando os dois pontos de quebra ocorrentes na região 16p11.2

Figura 4 – Representação da posição linear dos pontos de quebra (*proximal e distal breakpoints*) encontrados nos pacientes deste estudo (GRCh37/hg19)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela comparativa das manifestações clínicas observadas nos casos deste estudo

Tabela 2 – Tabela comparativa de frequência das manifestações clínicas encontradas nos pacientes desta pesquisa e os encontrados na revisão de literatura

Tabela 3 – Relação dos genes envolvidos na microdeleção 16p11.2 com suas respectivas funções e seu código OMIM

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Array-CGH</i>	<i>array Comparative Genomic Hybridization</i>
ADNPM	Atraso no Desenvolvimento Neuropsicomotor
ASD	<i>Autism Spectrum Disorder</i>
CAGdb	<i>Cytogenomics Array Group CNV Database</i>
CNV	<i>Copy Number Variation</i>
DECIPHER	<i>Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources</i>
DI	Deficiência Intelectual
DGV	Banco de Dados de Variantes Genômicas (<i>Database of Genomic Variants</i>)
FISH	<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i>
HIJG	Hospital Infantil Joana de Gusmão
ISCA	<i>International Standards for Cytogenomic Arrays</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
OMIM	<i>Online Mendelian Inheritance in Man</i>
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
PGH	Projeto Genoma Humano
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TDAH	Transtorno do Déficit de Atenção com Hiperatividade
TEA	Transtorno do Espectro Autista
VOUs	<i>Variants of Unknown Significance</i>

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
INTRODUÇÃO	10
CITOGENÉTICA MOLECULAR E ARRAY-CGH.....	11
SÍNDROME 16p11.2	14
INSTABILIDADE GENÔMICA	19
OBJETIVOS	20
OBJETIVO GERAL.....	20
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
MATERIAL E MÉTODOS	20
ASPECTOS ÉTICOS	20
SUJEITOS	21
CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO	21
ANÁLISE DE DADOS	21
REVISÃO DA LITERATURA	22
RESULTADOS	22
DESCRIÇÃO DOS CASOS.....	24
DISCUSSÃO	29
RELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO.....	30
ESTUDO DE CASOS	34
CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXO 1	41

RESUMO

A síndrome 16p11.2 é uma desordem causada por microdeleções de tamanho variável na região 11.2 do braço curto do cromossomo 16. Pacientes diagnosticados com esta síndrome geralmente possuem atraso no desenvolvimento e deficiência intelectual. A maioria também apresenta pelo menos algumas características de transtornos do espectro autista. Dismorfias e malformações congênitas também podem ser encontradas em pacientes diagnosticados. Este trabalho é um estudo retrospectivo, e objetiva verificar a prevalência da microdeleção 16p11.2 dentre 930 exames de *array* CGH realizados por um laboratório de exames genéticos de Florianópolis, assim como pretende identificar inter-relações de fenótipos encontrados nos pacientes, utilizando comparação do quadro clínico, resultados dos exames, banco de dados genômicos e revisão da literatura. No total, 4 casos são relatados nesta pesquisa. Foram avaliados em cada paciente: o tamanho da microdeleção, a posição linear dos genes envolvidos, o ponto inicial e final de quebra, existência ou não de outras microdeleções e/ou microduplicações no genoma dos pacientes e quaisquer outras informações adicionais presentes nos laudos técnicos. Este estudo revela uma prevalência de 0,43%, ou aproximadamente 1 indivíduo com a Síndrome da microdeleção 16p11.2 para cada 250 pacientes com distúrbios do desenvolvimento na coorte estudada. A região estudada (~593Kb) contém 28 genes. Os principais genes relacionados com os fenótipos encontrados são: DOC2A, HIP1P3, MAPK3, TBX6, MAZ, PRRT, KCTD13 e SEZ6L2. Apesar semelhança de seu genótipo, podemos observar a variabilidade de fenótipos já descritos na literatura sobre esta síndrome. Os dados obtidos confirmam que Atraso do Desenvolvimento Neuropsicomotor (ADNPM) e Deficiência Intelectual (DI) apresentam maior frequência entre os fenótipos observados nos casos desta pesquisa.

Palavras-chave: Microdeleção; 16p11.2; prevalência; CGH-array; Atraso de Desenvolvimento;

ABSTRACT

The 16p11.2 syndrome is a disorder caused by microdeletions of variable size in the 11.2 region of the short arm of chromosome 16. Patients diagnosed with this syndrome usually have developmental delay and intellectual disability. Most also have at least some characteristics of autism spectrum disorders. Dysmorphia and congenital malformations can also be found in diagnosed patients. This work is a retrospective study and aims to verify the prevalence of 16p11.2 microdeletion among 930 array-CGH tests performed by a genetic testing laboratory in Florianópolis, as well as aim to identify interrelations of phenotypes found in patients, using a comparison of the table clinical results, exams results, genomic databases and literature review. In total, four cases are reported in this study. We evaluated the size of the microdeletion, the linear position of the genes involved, the initial and final breakpoints, the existence of other microdeletions and/or microduplications in the genome of the patients and any additional information presented in the technical reports in each patients. This study reveals a prevalence of 0.43%, or approximately 1 individual with the 16p11.2 Microdeletion Syndrome for every 250 patients with developmental disorders in the cohort studied. The region studied (~ 593Kb) contains 28 genes. The main genes related to the phenotypes found are DOC2A, HIP1P3, MAPK3, TBX6, MAZ, PRRT, KCTD13 and SEZ6L2. Despite the similarity of its genotype, we can observe the variability of phenotypes already described in the literature on this syndrome. The data obtained confirm that Neuropsychomotor Developmental Delay (ADNPM) and Intellectual Disability (DI) present a higher frequency among the observed phenotypes in the cases of this research.

Keywords: Microdeletion; 16p11.2; prevalence; array-CGH; Developmental Delay

INTRODUÇÃO

Um marco fundamental para a era da genômica foi a conclusão do Projeto Genoma Humano (PGH) em 2003, que teve como objetivo o sequenciamento completo do genoma humano. O legado deixado pela análise deste sequenciamento pode ser observado nas mais diversas áreas: na farmacogenômica com a descoberta de alterações genéticas, testes diagnósticos e terapia gênica; na epigenética através do monitoramento ambiental e genotoxicidade; na pesquisa de variantes genéticas afim de avaliação riscos e susceptibilidades; no estudo da diversidade humana – evolução, genética de população e bioarqueologia -, entre tantas outras áreas. Goldim e Matte (1997-2000) afirmam que os objetivos do PGH na área da saúde envolveram melhorias e simplificações dos métodos de diagnóstico de doenças genéticas, otimização da terapia para essas doenças e a prevenção de doenças multifatoriais. Além disso, a conclusão desse projeto abriu as portas para uma compreensão mais profunda da medicina, proporcionando diagnóstico e até mesmo tratamento personalizados a pacientes (CARRASCO-RAMIRO et al., 2017). Segundo Côrrea (2002), a partir dos métodos automatizados de sequenciamento do genoma foram desenvolvidas aplicações que resultaram na aceleração e na expansão significativa do campo da bioinformática. Os testes de citogenética molecular começaram a ser usados para diagnosticar e confirmar distúrbios decorrentes de alterações gênicas, disponibilizando informações relevantes para prognósticos de doenças. O avanço de conhecimento acerca do genoma humano possibilitou o desenvolvimento de novas ferramentas de genotipagem que atualmente permitem detectar mesmo pequenas alterações genômicas a um custo relativamente baixo.

Apesar do grande avanço representado pelo PGH, este projeto limitou-se ao sequenciamento do DNA de poucos indivíduos, não permitindo por si só um esclarecimento adequado sobre a extensão de regiões variáveis. Para atingir este objetivo deu-se início a outro projeto, o “International HapMap Project” (The International HapMap Consortium, 2003), que tem por finalidade descrever os padrões comuns da variabilidade genética humana, proporcionando um recurso chave para os investigadores na procura de genes candidatos responsáveis por susceptibilidade ou resistência a patologias e fármacos, entre outros (MATOSO, 2014).

Distúrbios genômicos são um grupo de doenças causadas por rearranjos do genoma humano devido à instabilidade genômica inerente que resulta em susceptibilidade

à mutagênese de variação estrutural. No contexto da doença humana, as variantes estruturais incluem deleções, duplicações, bem como inversões e translocações (CARVALHO; LUPSKI, 2016). A citogenética clássica tem sido utilizada como ferramenta de baixo custo para identificar estas anomalias cromossômicas, desde seu aprimoramento técnico na década de 70 (CASPERSON; ZECH; MODEST, 1970). O exame de cariótipo (visualização e análise dos cromossomos por microscópio óptico) oferece como benefício o levantamento de todo o genoma e consegue identificar translocações balanceadas, mas a resolução da análise citogenética é limitada para cerca de 5-10 Mb (VIANNA et al., 2016). De acordo com Matoso (2014), esta área da genética clínica proporciona um diagnóstico em 10-15% dos pacientes com perturbações do neurodesenvolvimento, em particular o déficit intelectual (DI), as perturbações do espectro do autismo e má formações congênitas. Mas, esta taxa diagnóstica cai para cerca de 3-5% nos casos idiopáticos, uma vez que maior parte das alterações cromossômicas visíveis pela citogenética convencional são confirmações citogenéticas para síndromes cromossômicas conhecidas, como as síndromes de Down, Turner, Klinefelter (VIANNA et al., 2016). Segundo Hernando et al. (2002), somente cerca de 6% de as más formações congênitas pós-natais estão relacionadas a alterações citogenéticas visíveis detectadas pela banda G convencional.

CITOGENÉTICA MOLECULAR E ARRAY-CGH

Técnicas de citogenética molecular começaram a ser empregadas visando suprir as limitações da citogenética tradicional. Para a caracterização de síndromes genéticas conhecidas que envolvem deleções e duplicações abaixo da resolução da análise de cariótipo clássico, ou seja, com menos de 5Mb, foram desenvolvidas técnicas de hibridização *in situ* com sondas fluorescentes (do inglês *fluorescent in situ hybridization* – FISH), que permitem a identificação de tais deleções/duplicações nos tamanhos de 2-5Mpb (TRASK, 1991).

Atualmente, técnicas moleculares têm sido introduzidas para a identificação de alterações submicroscópicas por todo o genoma, dentre elas o CGH-array (*Comparative Genomic Hybridization Array* ou Técnica de Hibridização Genômica Comparativa por Array). A técnica de *Array CGH* permite a análise do genoma com uma resolução tão alta quanto 1 quilo bases (1 Kb), ou seja, mil bases (EVANGELIDOU et al., 2013; D'AMBROSIO et al., 2014).

O CGH foi descrito inicialmente em 1992 e produz um mapa do número de cópias de sequências de DNA no genoma. Nesta técnica, o DNA que está sendo analisado (DNA-teste) é marcado diferencialmente à um DNA referência normal e ambos são hibridizados entre si, utilizando dois fluorocromos diferentes (KALLIONIEMI et al, 1992). Desta técnica derivou a hibridização genômica comparativa em microchip de DNA, conhecida por *array CGH*, *microarray* ou aCGH.

Em menos de uma década as plataformas de microarranjos genômicos evoluíram a partir de matrizes de baixa resolução, contendo grandes clones de cromossomos artificiais bacterianos (BACs) ou menos de 100 mil sondas de oligonucleotídeos, para versões de alta resolução com mais de 1 milhão de sondas, utilizando oligonucleotídeo sintéticos, detectando com grande precisão microdeleções ou microduplicações pelo genoma inteiro (LAY-SON et al., 2015; PEREIRA et al., 2014; RETTERER et al., 2015).

Desde o primeiro estudo de caso, Hernando et al. (2002) confirmam que o uso combinado de métodos convencionais de banda G e CGH podem facilitar a correlação fenótipo-genótipo e podem contribuir para mapear regiões cromossômicas contendo genes implicados em malformações congênitas. Atualmente o CGH-*array* se tornou uma ferramenta indispensável para diagnóstico para detecção de micro deleções/duplicações, ou seja variações do número de cópias (CNVs) de trechos submicroscópicos de DNA no genoma, revolucionando o diagnóstico em pacientes com uma alteração de fenótipo considerado "cromossômico" (deficiência intelectual, características dismórficas, anomalias congênitas) e exame de cariótipo normal (BUSÉ, 2013).

Devido à sua alta rentabilidade diagnóstica e eficácia, o exame de CGH foi recomendado em 2010 pela American College of Medical Genetics and Genomics como o primeiro teste genético clínico preferencial de diagnóstico para pacientes com atraso de desenvolvimento, deficiência intelectual ou múltiplas anomalias congênitas (VIANNA et al. 2016).

O caminho desde a implantação do array CGH para investigar distúrbios do desenvolvimento até o momento atual revelou algumas surpresas. Inicialmente houve muita euforia quando se verificou que muitos dos pacientes apresentavam CNVs (do inglês, *Copy Number Variations*), que foram consideradas causas de sua patologia. Porém, logo foi verificado que CNVs são frequentes não somente em indivíduos com distúrbios patogênicos, mas também na população não afetada que apresentava muitas vezes duplicações e deleções extensas, inclusive de trechos ricos em genes sem algum

fenótipo obviamente deletério. Descobriu-se assim que as CNVs são uma fonte inesperadamente rica de polimorfismos de DNA em pessoas ditas normais (BUSE, 2013), revelando que a variação humana não é primordialmente resultante de polimorfismos de sequência, em particular os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs).

Tem-se, portanto, as CNVs benignas, que são polimorfismos benignos que consistem de regiões de DNA (com ou sem genes), duplicadas ou deletadas, encontradas com relativa frequência em pessoas “normais” e sem óbvia relação com patologias. Estudos colaborativos em larga escala de grupos populacionais “normais” resultaram numa listagem acessível das denominadas CNVs “benignas”. Na tentativa de mapear estas variantes, plataformas de array com uma resolução cada vez superior foram sendo aplicadas com o objetivo de identificar CNVs sem consequências ou com um impacto genômico mínimo. Segundo Matoso (2014), após a publicação dos primeiros artigos que reportavam a prevalência de CNVs no genoma de indivíduos saudáveis, clinicamente sem patologia, surge a necessidade de catalogar esta informação num formato acessível à comunidade científica, tanto a investigadores como clínicos. Com este objetivo foi criada uma base que reúne variações estruturais do genoma humano, de tamanho superior a 50 kb, o banco de Dados de Variantes Genômicas (DGVs).

As CNVs podem afetar a função de genes: a deleção ou a interrupção de um ou mais genes podem causar perda funcional e ocasionar fenótipos clínicos relevantes por haploinsuficiência (quando a expressão de apenas um alelo não supre o produto gênico em quantidade suficiente) ou por deixar exposta uma mutação recessiva no alelo não deletado (ausência de expressão de um alelo normal); duplicações podem alterar a expressão de alelos dominantes ou recessivos de acordo com a função celular do produto do(s) gene(s) afetado(s) (CAPPUCCIO et al., 2016; COOK; SCHERER, 2008). Mas o significado de muitas destas alterações não fica claro, pois o que sabemos do genoma ainda é muito incompleto (dosagem gênica, imprinting, etc.).

As CNVs patogênicas, consideradas raras ou muito raras, são efetivamente relacionadas a distúrbios e tendem abranger regiões genômicas com significativo número de genes ou afetam, de alguma forma, a expressão e a função de um ou mais genes críticos. Já as CNVs ditas potencialmente patogênicas, são geralmente classificadas assim quando são raras e abrangem genes de função importante, porém ainda não estão relacionadas de forma inequívoca com alguma desordem.

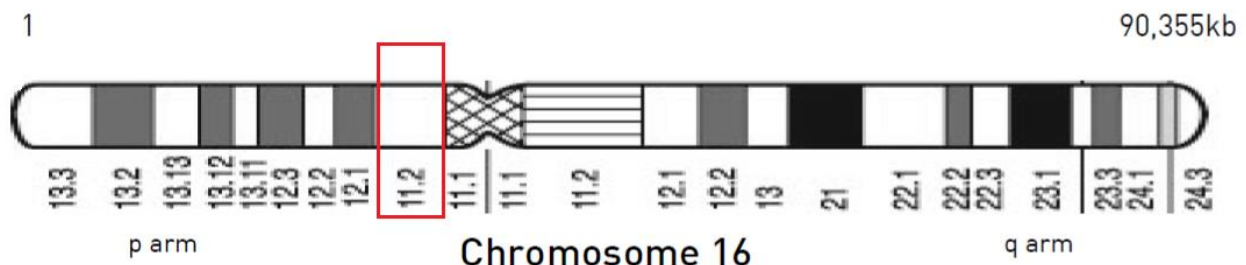
As CNVs são ditas incertas (do inglês *variants of unknown significance* – VOUs), quando são raras e envolvem regiões que contém genes de função desconhecida ou de relevância incerta, ou RNAs não-codificantes, ou mesmo sequências potencialmente regulatórias, não sendo possível descartar sua eventual patogenicidade (RIGGS; LEDBETTER; MARTIN, 2014).

Quando uma CNV não corresponde a uma síndrome reconhecida, muitas vezes o seu tamanho é correlacionado com a causalidade. Quanto maior a CNV, maior a probabilidade de a mesma ser deletéria, mas raramente o tamanho por si é só um bom determinante da causalidade – exceto quando é muito grande. Surge assim, a necessidade de consultar as bases de dados para a interpretação de cada CNV identificada durante a análise por array-CGH. A história familiar e um exame clínico detalhado são coadjuvantes essenciais durante o processo de interpretação das CNVs (MATOSO, 2014).

SÍNDROME 16p11.2

A síndrome 16p11.2 está associada a rearranjos desbalanceados na estrutura intersticial do cromossomo 16 (Figura 1). Esses rearranjos estão localizados, mais especificamente, na região da banda 11.2 do braço curto deste cromossomo, sendo causados por variação no número de cópias (CNVs), como deleção ou duplicação.

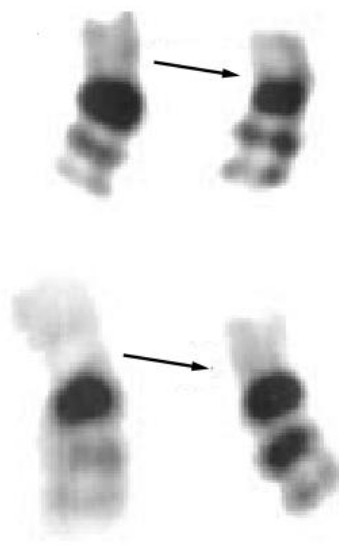
FIGURA 1 – Ideograma ilustrando o cromossomo 16 com destaque na região p11.2



Adaptado de *Understanding chromosome disorders* – Unique, 2010.

O primeiro estudo de caso foi descrito na literatura por Hernando et al. (2002) na Espanha. Esse trabalho foi pioneiro em associar múltiplas má formações congênitas à uma deleção intersticial *de novo* da região 16p11.2. O probando relatado apresentava retardo severo do crescimento intrauterino e múltiplas malformações congênitas, falecendo aos 5 meses de idade. Um exame de ultrassom na 20ª semana de gestação mostrou a presença de problemas cardíacos e múltiplos cistos renais unilaterais. Além disso, o probando em questão apresentava alterações craniofaciais, esqueléticas, geniturinárias e oculares. A realização do exame do cariótipo de banda G a partir de linfócitos, relatou a presença de 40 células XY, 46,del (16p) não mosaicas (Figura 2) e confirmada por array CGH.

Figura 2 - Cariótipo com banda G mostrando um cromossomo 16 normal (esquerda) e um cromossomo apresentando uma extensa deleção na região p11.2 (direita).



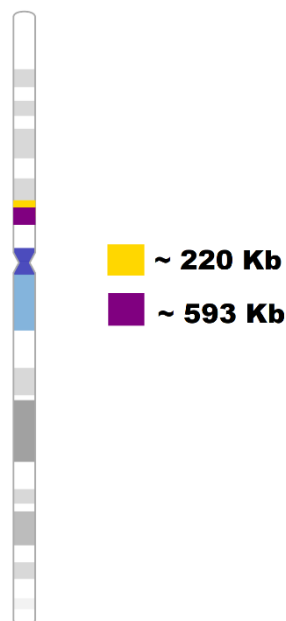
Devido à possibilidade de diagnóstico através do exame convencional de cariótipo e em virtude da ampla gama das características clínicas do paciente, pode-se inferir que a deleção em questão abrange uma extensa região (>5 Mb) envolvendo, provavelmente, muitos genes. Adaptado de Hernando *et al.*, 2002.

Apesar do primeiro estudo de caso da deleção 16p11.2 ter sido relatado em um neonato com múltiplas malformações congênitas em 2002, microdeleções nesta região foram reconhecidas como causa de condição sindrômica somente em 2007 por Ballif et al. Vários outros estudos foram realizados tentando correlacionar fenótipos encontrados com a microdeleção estudada e muitos destes estudos serão discutidos neste trabalho. (BIJSLMA et al., 2009; BUSÉ et al., 2013; GHEBRANIOUS et al., 2007; HANSON et

al, 2010; RODÀ et al., 2017; ROSENFELD et al., 2010; SHIMOJIMA et al., 2009; SHINAWI et al., 2015; WEISS et al., 2008; ZUFFEREY et al. 2012).

A região 11.2 do braço curto do cromossomo possui, reconhecidamente, vários pontos de quebra associados, dois dos quais sendo os mais comuns (Figura 3), criando duas microdeleções/microduplicações recorrentes. A região menor é de aproximadamente 220 Kb e está localizada na porção mais telomérica desta banda (#613444)¹. Segundo o banco de dados OMIM (do inglês, *Online Mendelian Inheritance in Man*), que lista genes que comprovadamente estão ou potencialmente podem estar envolvidos em distúrbios mendelianos, esta deleção abrange aproximadamente 9 genes OMIM, incluindo o gene *SH2B1*, e está associada a uma forma altamente penetrante de obesidade severa isolada precoce e com atraso de desenvolvimento. A outra região de quebra refere-se a uma deleção de aproximadamente 593 Kb, localizada na porção mais centromérica do cromossomo e é considerada a deleção típica da síndrome do 16p11.2.

FIGURA 3 – Ideograma ilustrando os dois pontos de quebra ocorrentes na região 16p11.2



¹ Disponível em: <<https://www.omim.org/entry/613444>> Acesso em: 01/03/2017

A síndrome 16p11.2 típica é caracterizada pela recorrente da deleção de ~593 kb na posição aproximada de 29,6 - 30,2 Mb no genoma de referência (GRCh37/hg19). Segundo o bando de dados OMIM, esta síndrome também pode ser conhecida como “Susceptibilidade ao Autismo 14A” ou AUTS14A. A microdeleção em questão é herdada de forma autossômica dominante e geralmente o probando² apresenta uma deleção *de novo*; no entanto, esta perda também pode ser transmitida de um genitor para um filho (MILLER et al., 2009).

De acordo com Griffiths (2008, p. 492), o processo de deleção requer duas quebras cromossômicas para remover o segmento intercalar. O fragmento deletado não possui centrômero; conseqüentemente, não pode ser levado para um pólo do fuso na divisão celular e é então, perdido, podendo levar a alterações no fenótipo do indivíduo portador. O tamanho do fragmento envolvido pode determinar a severidade do fenótipo, uma vez que quanto maior a deleção, maior é o número de genes deletados; porém, a função dos genes envolvidos também pode ser um fator determinante na gravidade das possíveis alterações fenotípicas decorrentes destas’ mutações. A realização de um diagnóstico genético específico melhora os cuidados médicos e permite um aconselhamento apropriado de risco de recorrência para a família (CAPPUCCIO et al., 2016).

Pacientes diagnosticados com a síndrome de 16p11.2 geralmente possuem atrasos no desenvolvimento (ADNPM – Atraso do Desenvolvimento Neuropsicomotor), principalmente na diminuição ou atraso na aquisição da fala e da linguagem, atraso no desenvolvimento motor e comprometimentos cognitivos, sendo que 20% dos portadores da deleção preenchem os critérios para deficiência intelectual (DI); destes, 65% DI leve e 35% DI moderada (HANSON et al., 2010; ZUFFEREY et al., 2012). A caracterização de DI, um dos mais prevalentes distúrbios do desenvolvimento, é dada por limitações significativas no funcionamento intelectual e no comportamento adaptativo, que envolve muitas habilidades sociais e práticas cotidianas de crianças acima dos 5 anos de idade (SCHALOCK et al., 2010). A maioria das DIs é classificada como sendo de causas idiopáticas (ainda não conhecidas) e sua etiologia pode ser tanto por fatores genéticos como ambientais.

Segundo Miller et al. (2009), a maioria dos portadores da microdeleção em questão também apresenta pelo menos alguns traços do Transtorno do Espectro Autista

² O conceito de probando refere-se a uma pessoa que serve como ponto de partida para o estudo genético de uma família.

(TEA). O autismo é uma desordem do neurodesenvolvimento da infância que promove prejuízos na capacidade de comunicação e interação social dos indivíduos afetados. Este fenótipo neurocomportamental inclui deficiência social, prejuízo na comunicação, comportamentos repetitivos e interesses restritos (WEISS et al., 2008). De acordo com a Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos (2014), habilidades de linguagem expressiva (vocabulário e a produção da fala) são geralmente mais afetadas do que as habilidades de linguagem receptiva (a capacidade de entender a fala). Apenas 10-20% dos indivíduos com TEA têm uma etiologia conhecida, que inclui alterações genéticas em apenas um gene e anormalidades citogenéticas, como por exemplo, CNVs de novo. (ABRAHAM; GESCHWIND, 2008).

Estudos relacionam esta TEA com tendo um forte componente genético, mas a identificação de *loci* de susceptibilidade autista permanece evasiva (KUMAR et al., 2007). A busca por *loci* de susceptibilidade ao autismo envolve várias abordagens, incluindo análise de ligação no genoma, estudos de associação e mutação de genes candidatos. Em 2007, um estudo norte-americano envolvendo a investigação de 180 probandos autistas e 372 controles, sugeriu que a microdeleção 16p11.2 é um dos distúrbios genômicos recorrentes (1,1%) associados ao autismo (KUMAR et al, 2007).

Malformações congênitas também podem ser encontradas em pacientes diagnosticados. Alguns indivíduos afetados têm anormalidades físicas mais brandas, tais como implantação baixa das orelhas, dedos parcialmente fusionados (sindactilia parcial), baixa estatura, orelhas malformadas e/ou com implantação baixas e anomalias oculares como coloboma ou microftalmia (BALIFF et al., 2007; ZUFFEREY et al., 2012). Outros, podem apresentar macrocefalia (geralmente tornando-se aparente aos dois anos de idade), a má formação de Arnold-Chiari e ectopias cerebelares como sendo as anormalidades estruturais mais frequentemente observadas. Talvez as malformações mais diretamente relacionadas com a deleção sejam anomalias vertebrais e espinhais, presentes em cerca de 20% dos portadores da deleção (ZUFFEREY et al., 2012).

No entanto, não há um padrão particular de anormalidades físicas que caracteriza a síndrome de deleção do 16p11.2, sendo que a maioria das malformações são raras (ZUFFEREY et al., 2012). Os sinais e sintomas dessa alteração genética podem variar ainda entre os membros afetados da mesma família (heterogeneidade fenotípica).

Devido à dificuldade de diagnóstico a prevalência desta deleção na população geral é difícil de determinar, porém, de acordo com a Biblioteca Nacional de Medicina

dos Estados Unidos (2014), a frequência populacional mundial de portadores desta microdeleção é estimada em 3 a cada 10.000.

Apesar de haver relatos na literatura de estudos de casos envolvendo duplicações (código OMIM* 614671)³, na coorte deste estudo somente houveram casos diagnosticados com mutação do tipo deleção na região crítica do cromossomo 16p11.2 (OMIM* 611913)⁴.

INSTABILIDADE GENÔMICA

Até 2002 apenas as deleções terminais do braço curto do cromossomo 16 tinham sido descritas e associadas a uma síndrome, a síndrome ATR (α -talassemia-retardo-16). Mas desde o relato dos primeiros casos de microdeleção na região p11.2 em 2002, com a constatação de que na maioria dos casos origina-se “de novo”, busca-se compreender melhor as causas da instabilidade genômica desta região que confere os dois pontos de quebra bem estabelecidos na literatura.

O mecanismo mais provável para esta microdeleção é através de uma recombinação intracromossômica específica entre duplicações segmentares presentes nos pontos de quebra (GHEBRANIOUS et al., 2007). Duplicações segmentares são blocos de DNA que variam de 1 a 400 kb de comprimento e que ocorrem em mais de um local dentro do genoma (SHARP et al., 2005). Muitos estudos observaram uma associação significativa entre a localização de duplicações segmentares e regiões de rearranjo e/ou instabilidade cromossômica. Estudos moleculares demonstraram que a presença de repetições flanqueadoras grandes e altamente homólogas predispõem estas regiões a um rearranjo recorrente por recombinação, resultando em deleção, duplicação ou inversão (SHAW et al., 2002).

As regiões pericentroméricas do genoma são regiões estruturalmente complexas, adjacentes aos centrômeros, que são enriquecidas para elementos de sequências repetitivas e duplicações segmentares; esta abundância de duplicações segmentares parece ter feito as regiões pericentroméricas mais suscetíveis a deleção ou rearranjo (BALLIF et al., 2007). O desalinhamento de duplicações segmentares na meiose pode

³ Disponível em: < <https://www.omim.org/entry/614671> > Acesso em: 26/08/2017

⁴ Disponível em: < <https://www.omim.org/entry/611913> > Acesso em: 26/08/2017

gerar microdeleções, microduplicações e inversões da sequência genômica interveniente, dependendo da orientação dos segmentos duplicados (CARVALHO et al., 2016).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

O presente estudo teve como objetivo entender a relevância da síndrome 16p11.2 em uma coorte de 930 pacientes com distúrbios do desenvolvimento que realizaram exame de array CGH em Santa Catarina no período de janeiro de 2013 até dezembro de 2016, e comparar esta coorte e os afetados pela síndrome com dados da literatura.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Dentre os objetivos específicos estão:

- Estabelecer a prevalência da Síndrome 16p11.2 na coorte estudada;
- Caracterizar o(s) subtipo(s) de Síndrome 16p11.2 encontradas na coorte estudada;
- Coletar dados clínicos, fenotípicos e de desenvolvimento de cada paciente com a síndrome;
- Comparar os dados coletados com a literatura, revisando a Síndrome de microdeleção 16p11.2.

MATERIAL E MÉTODOS

ASPECTOS ÉTICOS

O presente trabalho é resultado de uma parceria entre o Laboratório de Neurogenética do Desenvolvimento da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o Laboratório Neurogene S/A Ltda. e o Hospital Infantil Joana de Gusmão (HIJG). Este estudo faz parte da pesquisa “Análise e interpretação das variações genômicas detectadas

por CGH-array em pacientes com distúrbios do desenvolvimento” aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos do Hospital Infantil Joana de Gusmão (CEP-HIJG) sob o parecer número 2.339.104.

SUJEITOS

Este trabalho trata-se de um estudo retrospectivo de casos de pacientes diagnosticados com a Síndrome de deleção 16p11.2 em uma coorte de 930 pacientes com distúrbios do desenvolvimento que realizaram exame de CGH-array por solicitação médica, realizados através do Laboratório Neurogene no período de janeiro de 2013 até dezembro de 2016.

O banco de dados utilizado para esta pesquisa pertence ao Laboratório Neurogene (Florianópolis/SC).

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO/EXCLUSÃO

Para identificação dos casos da microdeleção em questão, realizou-se uma minuciosa análise no acervo de laudos técnicos de exames do Laboratório Neurogene.

Foram inicialmente identificados todos os casos que apresentavam alteração genômica na região 16p11.2

Foram mantidos nesta pesquisa pacientes que apresentavam a alteração 16p11.2 isolada ou acompanhada apenas de CNVs consideradas benignas ou de significado incerto.

Foram excluídos desta pesquisa os casos que apresentaram duplicações/deleções que envolviam mais bandas além da 16p11.2, e aqueles que além da microdeleção no 16p11.2, apresentaram alguma outra CNV considerada patogênica.

ANÁLISE DE DADOS

Foram avaliados em cada paciente: o tamanho da microdeleção, a posição linear dos genes envolvidos, o ponto inicial e final de quebra, existência ou não de outras microdeleções/microduplicações no genoma dos pacientes e quaisquer outras

informações adicionais presentes nos laudos técnicos. A posição genômica linear é dada relativa ao Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (*National Center for Biotechnology Information* – NCBI), com base no Consórcio Genoma Referência do genoma humano de fevereiro de 2009.

Para a descrição clínica foram utilizados os dados fornecidos pelos médicos, com base nos prontuários dos pacientes. Para padronizar os dados clínicos dos pacientes a fim de comparação, o preenchimento de um questionário (Anexo 1) abrangendo as áreas neurológica e genética teve como finalidade investigar e categorizar o fenótipo de cada paciente, bem como seu histórico familiar, quando disponível.

Para análise das alterações foi utilizado o banco de Dados de Variantes Genômicas (DGVs) que reúne dados de artigos científicos e lista de CNVs. Além deste, foram consultados os seguintes bancos de dados: *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM); *International Standards for Cytogenomic Arrays* (ISCA); *Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources* (DECIPHER); *Cytogenomics Array Group CNV Database* (CAGdb).

REVISÃO DA LITERATURA

As ferramentas de busca utilizadas para revisão bibliográfica foram os sites *PubMed*, *SciELO* e *MedLine* utilizando-se das palavras-chave *16p11.2 deletion*, *16p11.2 microdeletion* e *syndrome 16p11.2*.

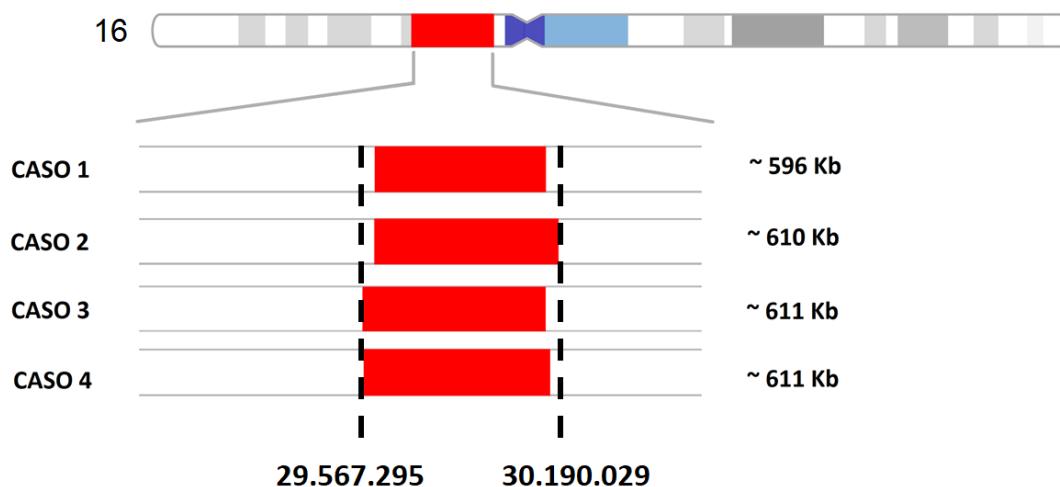
RESULTADOS

Dentre os 930 exames realizados em pacientes com distúrbios do desenvolvimento no período avaliado, foram encontrados 12 casos que apresentavam alteração na região 16p11.2. Destes, cinco apresentavam duplicações fora da região crítica para a Síndrome 16p11.2 (consideradas CNVs benignas), dois casos apresentaram a deleção de 220kb da Síndrome do 16p11.2 distal, mas apresentaram também outra CNV considerada patogênica, e um paciente apresentou uma deleção extensa que envolveu também outras bandas. Estes casos foram excluídos deste estudo por não satisfazerem os critérios adotados (vide critérios de inclusão/exclusão em materiais e métodos).

Apenas quatro casos satisfizeram os critérios adotados, todos apresentando a microdeleção típica da síndrome do 16p11.2, de aproximadamente 600Kb. Isto revela uma prevalência de 0,43%, ou aproximadamente 1 indivíduo com a Síndrome da microdeleção 16p11.2 para cada 250 pacientes com distúrbios do desenvolvimento na coorte estudada.

Notavelmente, as quatro deleções em questão compartilhavam aproximadamente o mesmo ponto de quebra proximal (*proximal breakpoint*), localizado a ~29.57 Mb a partir do telômero 16p, e de quebra distal (*distal breakpoint*) ~30.19 Mb (GRCh37/hg19), resultando em deleções de ~593 a ~611 kb (Figura 4).

Figura 4 – Representação da posição linear dos pontos de quebra (proximal e distal) encontrados nos pacientes deste estudo (GRCh37/hg19)



DESCRIÇÃO DOS CASOS

CASO 1

O caso 1 trata-se de indivíduo masculino de 11 anos, quarto e último filho de pais não aparentados.

Manifestações clínicas: Este paciente apresenta ADNPM (mais especificamente atraso na linguagem): começou a engatinhar com mais de 1 ano de idade, começou a caminhar com mais de 2 anos e começou a falar com mais de 3 anos e 6 meses. Possui pregas epicânticas, obesidade e hipoglicemia. Fez uso de gardenal por mais de 5 anos. Apresenta dificuldade escolar, repetindo de série por dois anos. Lida com conflitos verbais e agressões físicas na escola.

Gravidez e parto: Nascido a termo com 4,160 kg de parto cesáreo. Fruto de uma gravidez não planejada e não desejada. O paciente apresentou episódio de crise convulsiva uma hora após o parto. Durante a gravidez, a mãe sofria agressões físicas, teve um episódio de crise alérgica e sofreu uma queda.

Histórico familiar: Possui caso de histórico de convulsão familiar da parte materna.

Resultado de CGH-array: Neste paciente foi observada perda de 596 Kbp no cromossomo 16 na região p11.2 na posição linear 29.580.020 – 30.176.508. Outro achado foi uma deleção de 328 Kbp no cromossomo X na região p22.31 na posição linear 6.492.010-6.820.238 onde não foram encontrados genes, considerada uma CNV benigna.

Outros exames: O paciente possui exame de cariótipo e exame para X-frágil com resultados normais.

CASO 2

O caso 2 trata-se de indivíduo feminino com 14 anos de idade.

Manifestações clínicas: A realização do exame CGH-array foi solicitada a fim de esclarecer a etiologia de atraso no desenvolvimento.

Gravidez e parto: Dados insuficientes

Histórico familiar: Dados insuficientes

Resultado de CGH-array: Nesta paciente foi identificada uma perda de 610 Kbp no cromossomo 16 na região p11.2 na posição linear 29.580.020 – 30.190.029. Não foram encontrados outras CNVs nesta paciente.

Outros exames: A paciente havia realizado teste de cariótipo prévio, com resultado normal.

CASO 3

O caso 3 trata-se de indivíduo masculino com 14 anos de idade, filho de pais que são primos de 3º grau

Manifestações clínicas: ANDPM, dislalias, obesidade e deficiência intelectual. Apresenta dismorfias como: crânio braquicefálico, fronte alta, orelhas displásicas, septo nasal proeminente, hipoplasia das asas do nariz, lábios finos e ausência dos 2^{os} pododáctilos e escoliose lombar de convexidade à direita. Além disso apresenta dislipidemia e bronquite asmática.

Gravidez e parto: Nascido a termo com 3,085 g kg de parto cesáreo de mãe com mais de 35 anos de idade.

Histórico familiar: Dados insuficientes.

Resultado de CGH-array: Neste paciente identificou-se uma deleção de 611 Kb no cromossomo 16p11.2 na posição linear 29.567.295 – 30.177.916. Além disso, a análise por microarray identificou uma duplicação de 143 Kp na região 16q22.11 na posição linear 32.893.045 – 33.035.797, onde existem 2 genes OMIM: TIAM1 (*600687) e SOD1 (*147450). O mesmo achado genômico também é encontrado no banco de dados DGV, mostrando evidências que este achado é uma variação normal da população, sendo considerada uma CNV benigna.

Outros exames: Dados insuficientes

CASO 4

O caso 4 trata-se de indivíduo masculino com 10 anos de idade.

Manifestações clínicas: ADNPM: começou a andar somente com 2 anos de idade e a falar somente depois dos 5 anos completos. Foi diagnosticado com autismo aos 3 anos de idade, possui transtorno do déficit de atenção e hiperatividade. Apresentou um episódio de convulsão febril. Até os sete anos de idade não tinha total controle dos esfíncteres.

Gravidez e parto: Nasceu com 2.810kg de parto normal, com 40 semanas de gestação.

Histórico familiar: Dados insuficientes

Resultado de CGH-array: A análise por microarray identificou uma perda de 611 Kb no cromossomo 16 na região p11.2 na posição linear 29.567.295 – 30.177.999. Não foram encontrados outras CNVs neste paciente.

Outros exames: Este paciente havia realizado teste de cariótipo prévio, com resultado normal.

Tabela 1 – Tabela comparativa das manifestações clínicas observadas nos casos deste estudo

Fenótipo	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4
Atraso na linguagem	+	+	+	+
Atraso desenvolvimento motor	+	+	+	+
Autismo	-	-	-	+
Obesidade	+	-	+	-
Convulsão	+	-	-	+
TDA	-	-	-	+
Hiperatividade	-	-	-	+
Problemas cardíacos	D.I	D.I	D.I	D.I
Dismorfias	-	+	-	-

Legenda: + Presente
 - Ausente
 D.I = dados insuficientes

REVISÃO DA LITERATURA

A revisão, realizada de conforme critérios descritos em materiais e métodos, resultou em um total de 174 artigos. Destes foram excluídos em um primeiro momento os artigos científicos que envolviam relatos de casos de pacientes diagnosticados com ambas as deleções (> 700Kb) e/ou diagnosticados somente com a microdeleção de ~220Kb. Em um segundo momento foram selecionados principalmente artigos que descreviam coortes ou faziam revisão dos casos descritos anteriormente, comparando fenótipos na busca de uma caracterização clínica que permitisse delinear fenotipicamente o desenvolvimento, dismorfias e malformações típicas da Síndrome da microdeleção (típica) 16p11.2.

Dez artigos foram selecionados, revisados, e os resultados, aliados aos dos encontrados para os pacientes do presente estudo, foram esquematizados na Tabela 2.

Tabela 2 – Tabela comparativa de frequência das manifestações clínicas encontradas nos pacientes desta pesquisa e os encontrados na revisão de literatura

	Atraso de linguagem/ aprendizado	Atraso motor	Autismo	Obesidade	Convulsão	TDA	Hiperatividade	Retardo Mental	Problemas Cardíacos	Dismorfias	Referências
Coorte deste estudo (n=4)	1	1	0,25	0,50	0,50	0,25	0,25	0	0	0	Este estudo
2 gêmeos monoigóticos	0,50	0,75	0	1	1	0	0	1	1	1	Ghebranious et al., 2007
Coorte de Busè (n=4)	1	1	0,50	0,25	0	0	0	0	0	1	Busè et al., 2013
Coorte de Rodà (n=6)	1	1	1	0,83	0,83	0	0	0	0	0,83	Rodà et al., 2017
Coorte de Zufferey (n=75)	0,24	0,5	0	0,70	0	0	0	0	0	0,60	Zufferey et al., 2012
Probanda de Shimojima	1	1	0	0	1	0	0	1	1	1	Shimojima et al., 2009
Coorte de Hanson (n=21)	0,66	0,81	0,20	0	0	0	0	0	0	0	Hanson et al., 2010
Coorte de Shinawi (n=17)	1	0,50	0,27	0	0,31	0	0	0	0	0,36	Shinawi et al., 2015
Coorte de Rosenfeld (n=18)	0,94	1	0,56	0	0,11	0	0	0	0,16	0,22	Rosenfeld et al., 2010
Coorte de Bijlsma (n=14)	0,71	0,85	0,07	0,35	0,21	0	0	0	0	0,64	Bijlsma et al., 2009
Coorte de Weiss (n=5)	1	1	1	0,40	0	0	0	0	0	0	Weiss et al., 2008

Recentemente, Steinman et al. (2016) realizaram um estudo aprofundando dados neurológicos encontrados em uma coorte de 136 portadores da microdeleção 16p11.2. Dentre as manifestações clínicas neurológicas encontradas destacam-se: anormalidades da articulação da fala (79%), hipotonia simétrica dos membros (49%), hiporreflexia (48%), agilidade anormal (47%), covinhas sacrais (34%).

DISCUSSÃO

Este presente estudo demonstrou uma prevalência da microdeleção 16p11.2 típica de 0,43% entre pacientes diagnosticados com distúrbios do desenvolvimento na coorte estudada. Esse é um dado muito importante, uma vez que não há relatos no Brasil sobre o impacto desta síndrome e a coorte do presente estudo é de 930 indivíduos portadores de distúrbios do desenvolvimento, na maioria envolvendo deficiência intelectual, autismo e dismorfias. Este é o primeiro estudo de prevalência da Síndrome 16p11.2 em uma coorte latino-americana, uma vez que não foram encontrados relatos de estudos de coorte ou populacionais de prevalência para esta síndrome na América Latina, apenas alguns relatos de casos específicos.

Os resultados encontrados no presente trabalho são semelhantes aos descritos na literatura atual, onde a microdeleção em questão é encontrada em 0,4% das pessoas com deficiência intelectual (BIJLSMA et al., 2009; HANSON et al., 2015) e em cerca de 0,5% a 1% em pessoas do espectro autista (ZUFFEREY et al., 2012, WEISS et al., 2008). Já em coortes com séries grandes de pacientes (norte-americanos e europeus) que realizaram exame de array CGH para uma variedade de distúrbios do desenvolvimento, que incluem atraso no desenvolvimento, deficiência intelectual e malformações, a prevalência dessa microdeleção foi de 0,28% (ZUFFEREY et al., 2012).

Estes dados são interessantes, pois mostram que não há um impacto significativo das possíveis variáveis de imigração que, especialmente no sul do Brasil poderiam ser significativos, uma vez que houve levas de imigrantes que poderiam ter provocado algum efeito tipo fundador, uma vez que a alteração também ocorre na população em geral, com uma prevalência estimada entre 0,05% e 0,03% (JACQUEMONT et al., 2011; BIBLIOTECA NACIONAL DE MEDICINA DOS ESTADOS UNIDOS, 2014)

É interessante destacar que mesmo com uma certa prevalência da microdeleção na população “não clínica”, a maioria dos casos de 16p11.2 (60-74%) ocorrem *de novo* (ZUFFEREY et al., 2012; STEINMAN et al., 2016), ou seja, os indícios sugerem uma adaptabilidade menor dos indivíduos que portam esta microdeleção. De fato, quando a microdeleção é herdada, é maioria dos casos é herdada da mãe – o que pode indicar que os homens portadores da microdeleção são menos aptos a ter sucesso em encontrar uma parceira e deixar descendentes. Zufferey et al. (2012) incluíram em sua avaliação clínica indivíduos portadores da microdeleção 16p11.2 detectados na população em geral, assim como irmãos e genitores portadores (mas não “pacientes”) de indivíduos considerados clinicamente afetados e constataram que “pode se dizer que não há indivíduos com a microdeleção típica 16p11.2 sem fenótipos”. Verificaram que todos os portadores apresentaram alguns dos comprometimentos típicos da síndrome, como um quociente de inteligência abaixo do esperado para sua família e condições educacionais, dificuldades de aprendizado, algumas dismorfias, além de outros fenótipos.

RELAÇÃO GENÓTIPO-FENÓTIPO

A microdeleção investigada neste trabalho abrange uma região de aproximadamente 593 Kb, contendo 28 genes. Dentre eles, 21 genes são listados no banco de dados OMIM, e incluem diversos genes com potencial participação no desenvolvimento neurológico. A tabela 3 faz uma listagem dos genes envolvidos nesta região, excluindo pseudogenes, incluindo um pequeno resumo da principal função de cada gene.

Tabela 3 – Relação dos genes envolvidos na microdeleção 16p11.2 com suas respectivas funções e seu código OMIM

GENE	FUNÇÃO (NCBI)	OMIM
SPN	Família das sialoglicoproteínas de superfície de linfócitos T, monócitos, granulócitos e alguns linfócitos B	*182160
PPRT	Codifica uma enzima chave no catabolismo de quinolinato. O quinolinato atua como a exitotoxina endógena mais potente para os neurônios. A elevação dos níveis de quinolinato no cérebro tem sido associada a patologias de doenças neurodegenerativa	*606248
ZG16	Lecitina solúvel que interage com manose e sulfato de heparano	*617311

KIF22	A proteína codificada por este gene é um membro da família de proteínas semelhante à quinase. Os membros da família são motores moleculares dependentes de microtúbulos que transportam organelas dentro das células e movem os cromossomos durante a divisão celular	*603213
MAZ	Codifica uma fosfoproteína nuclear envolvida na tumorigênese maligna	*600999
PRRT2	Codifica uma proteína transmembranar expressa no cérebro e medula espinhal em estádios embrionário e pós-natal.	*614386
PAGR1 PAXIP1	É um componente de um complexo de metilmetransferase de multi-proteína Set1-like	*612033
MVP	Codifica estruturas de ribonucleoproteínas que podem estar envolvidas no transporte núcleo-citoplasmático. Essa proteína pode desempenhar um papel em múltiplos processos celulares regulando as vias de sinalização	*605088
CDIPT	Codifica uma proteína de membrana integral encontrada no lado citoplasmático do retículo endoplasmático e do aparelho de Golgi	*605893
SEZ6L2	Está envolvido na maturação e plasticidade neuronal	*616667
ASPHD1	Domínio 1 aspartato beta-hidroxilase	
KCTD13	Domínio de tetatrização do canal de potássio	* 608947
LOC107984836	Não caracterizada	-
TMEM219	Proteína transmembrânica 219	-
TAOK2	Este gene codifica uma proteína quinase serina/treonina envolvida em diversos processos, incluindo sinalização celular, organização e estabilidade dos microtúbulos e apoptose	*613199
HIRIP3	Envolvida na transcrição de genes de histonas	*603365
DOC2A	É principalmente expresso no cérebro e é sugerido que esteja envolvido na liberação do neurotransmissor dependente de Ca ²⁺	*604567
FAM57B	Codifica uma proteína transmembranar, que pode ser um alvo provável da gama receptora ativada por proliferador de peroxissoma. Está relacionado com obesidade	*615175
ALDOA	Aldolase A é encontrada no embrião em desenvolvimento e é produzida em quantidades ainda maiores no músculo adulto. A deficiência de Aldolase A tem sido associada a miopatia e anemia hemolítica	*103850
PPP4C	Regula vários processos celulares críticos, incluindo crescimento e organização de microtúbulos, recuperação de pontos de controle de DNA, apoptose e sinalização TNF-alfa	*602035
TBX6	Os genes T-box codificam os fatores de transcrição envolvidos na regulação dos processos de desenvolvimento	*602427
YPEL3	A superexpressão de YPEL3 está relacionada com redução do crescimento de linhagens celulares humanas e fibroblastos; e desencadeou a senescência celular	*609724
GDPD3	Atividade de lisofosfolipase em direção a vários lisofosfolípidos, com maior atividade contra o fator ativador de liso-plaquetas	* 616318
MAPK3	Atua em uma cascata de sinalização que regula vários processos celulares, como proliferação, diferenciação e progressão do ciclo celular em resposta a uma variedade de sinais extracelulares	*601795

Os genes que estão grifados são aqueles relatados na literatura como associados às manifestações clínicas encontradas em portadores da síndrome.

Ainda é desconhecida a relação de como a microdeleção desses genes resulta nas manifestações clínicas associadas à deleção 16p11.2, porém alguns estudos tentaram relacionar os papéis de alguns genes-chave e suas vias funcionais associadas como responsáveis pelas características fenotípicas. A maioria dos genes em 16p11.2 apresenta padrão de expressão dependente da dosagem (MIGLIAVACCA et al., 2015), portanto, as funções patogênicas de cada gene ou suas combinações requerem um estudo mais aprofundado.

O gene DOC2A (OMIM*604567) codifica uma proteína predominantemente expressa no cérebro e localiza-se para as vesículas sinápticas (ORITA et al., 1995). É possivelmente envolvido em liberação de neurotransmissor dependente de cálcio e no transporte de vesículas intracelulares dependentes de dineína. Os camundongos DOC2A *knockout* apresentam alterações na transmissão sináptica e potencialização a longo prazo, além de déficits de aprendizagem e comportamentais que incluem comportamento de evasão passiva anormal (KUMAR et al., 2007).

Com relação ao gene HIRIP3, Lorain et al. (1998) descobriram em estudos in vitro que HIRIP3 interage com HIRA e com histonas H2B e H3, sugerindo que um complexo contendo HIRA-HIRIP3 poderia funcionar em alguns aspectos do metabolismo da cromatina e das histonas. Esse gene é um candidato importante para a síndrome de Di George e distúrbios relacionados ao desenvolvimento (Kumar et al., 2007). Um estudo realizado por Ghebranious et al. (2007) conjectura que haploinsuficiência neste gene pode ser responsável pelo desenvolvimento de deformidades valvulares aórticas nos gêmeos relatados em seu estudo.

O gene MAPK3 (OMIM*601795) é expresso em cérebros humanos fetais e adultos. Atua em uma cascata de sinalização que regula vários processos celulares, como proliferação, diferenciação e progressão do ciclo celular em resposta a uma variedade de sinais extracelulares e é componente de sinalização necessário para várias formas de aprendizagem. Teste realizados com ratos *Mapk3* *-/-* exibiram um comportamento de evasão anormal, hiperatividade e anormalidades do sistema imunológico (Kumar et al., 2007).

Os genes T-box codificam os fatores de transcrição envolvidos na regulação dos processos de desenvolvimento. O TBX6 (OMIM*602427) codifica um regulador

transcricional envolvido em processos de desenvolvimento. Wu et al. (2015) sugerem a relação da deleção deste gene com as anormalidades vertebrais e escoliose observadas em alguns indivíduos de sua pesquisa.

O gene MAZ (OMIM*600999), é expresso em vários tecidos, com maior expressão no cérebro embrionário humano. O MAZ regula diretamente os genes envolvidos na sinalização GABA, na diferenciação neuronal e a via da serotonina.

O gene PRRT (OMIM* 606248) codifica quinolinato de fosforribosiltransferase, uma enzima chave no catabolismo de uma potente endotoxina endógena aos neurônios chamada quinolinato. Elevação dos níveis de quinolinato no cérebro devido à atividade diminuída desta enzima foi associada à patogênese de epilepsia em seres humanos.

As variantes patogênicas do gene PRRT2 causam discinesia paroxística cinesiológica⁵, bem como epilepsia infantil benigna familiar e convulsões infantis com síndrome da Coreoatetose (HERON et al., 2012). Ambos os fenótipos foram relatados em indivíduos com a microdeleção recorrente 16p11.2.

Um dos genes em destaque recentemente nesta região é o KCTD13, um dos genes responsável pelo neurodesenvolvimento, que, quando deletado provoca macrocefalia e fenótipo de autismo. KCTD13 foi identificado como um dos principais fatores para os fenótipos neuroanatômicos da microdeleção recorrente 16p11.2 (GOLZIO et al., 2012). Um papel para as alterações da dose de KCTD13 é consistente com o autismo em uma família com uma deleção de 16p11.2 (CREPEL et al., 2010). Golzio et al. (2012) concluíram que seus dados sugerem que o KCTD13 é um dos principais fatores para os fenótipos de desenvolvimento neurológico associados à CNV 16p11.2. Mais recentemente Escamilla et al. demonstraram que camundongos com deleção do gene *Kctd13* apresentam redução na transmissão sináptica (ESCAMILLA et al., 2017).

O SEZ6L2 é um gene está envolvido na maturação e na plasticidade neuronal. Possui expressão aumentada no sistema nervoso central durante o desenvolvimento de cérebro embrionário de ratos e humanos (KUMAR et al., 2009). Estudos com ratos *Sez -/-* mostram anomalias cerebelares nas inervações de células de Purkinje com impacto na coordenação motora, além de correntes pós-sinápticas excitatórias anormais (CREPEL et al., 2010).

⁵ Discinesias paroxísticas cinesiológica são um grupo de condições que se manifestam com movimentos involuntários que se repetem episodicamente; ataques induzidos por movimento súbito.

Além dos genes considerados importantes neste relato, é importante salientar que esta grande região de perda contém vários outros genes (Tabela 2) e a alteração da “dose gênica” de cada um deles contribuirá para o fenótipo.

ESTUDO DE CASOS

Os pacientes relatados neste estudo apresentam aproximadamente o mesmo tamanho de quebra cromossômica (entre ~593 a ~611 Kb) e apresentam os mesmos genes deletados. Apesar semelhança de seu genótipo, podemos observar a variabilidade de fenótipos já descritos na literatura sobre esta síndrome.

Dentre as manifestações clínicas analisadas na literatura, pode-se concluir que Atrasos do Desenvolvimento Neuropsicomotor e Deficiência Intelectual apresentam maior frequência entre os casos já descritos. Isso também se observa nesta pesquisa, uma vez que todos os casos relatados apresentam ADNPM e DI.

Dois casos apresentaram obesidade (Caso 1 e 3), porém, é importante salientar que a região que compreende o gene *SH2B1*⁶, considerado principal causador da obesidade em indivíduos com a deleção menor, de 220 kb ou da deleção conjunta de ~700 kb (a deleção de 220 kb aliada a deleção típica do presente estudo) não se apresenta deletada na região típica. Mesmo assim a obesidade é um fenótipo comum da deleção típica. Uma das hipóteses para este fenótipo seria que estes pacientes apresentem algum distúrbio metabólico ao invés de genético. Sabe-se, por exemplo, que o caso 1 apresenta hipoglicemia, o que pode lhe conferir susceptibilidade a obesidade.

Apenas o caso 4 deste estudo apresentou TEA, porém, observa-se na revisão bibliográfica que este é um fenótipo muito comum entre pacientes portadores desta síndrome. Com base em relatórios de literatura atuais, o TEA é diagnosticado em aproximadamente 20% dos indivíduos com a microdeleção 16p11.2 (ou seja, com uma frequência muito maior do que na população geral, na qual TEA é diagnosticada em ~ 1:68 crianças) (MILLER et al., 2009).

⁶ Associado a uma forma altamente penetrante de obesidade severa isolada precoce

CONCLUSÃO

Este é o primeiro estudo de prevalência da microdeleção 16p11.2 em uma coorte latino-americana de distúrbios do desenvolvimento. Os dados não diferem muito do encontrado em outras coortes.

Pode-se concluir que uma série de distúrbios comportamentais e físicos afeta a grande maioria dos portadores da deleção 16p11.2. As manifestações clínicas encontradas nos pacientes relatados se somam à literatura e são condizentes com aquelas já descritas na bibliografia atual. Como principalmente os fenótipos de malformação são muito variados e na maioria ocorrem em apenas alguns casos, estudos abrangendo uma coorte maior são necessários para determinar a extensão total da grande variabilidade de fenótipos observados entre pacientes com deleção de 16p11.2.

Correlações genótipo-fenótipo são mais difíceis de estabelecer para grandes microdeleções que englobam um número substancial de genes (BALLIF et al., 2007). Além disso, a verdadeira frequência de indivíduos assintomáticos com essa deleção genômica pode ser maior do que o atualmente apreciado e exigirá verificação com base na presença de deleção genômica. O diagnóstico precoce facilita o reconhecimento das necessidades que os pacientes podem ter, como por exemplo, estimulação precoce, terapia de fala e gestão nutricional.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo indicam que para fins de publicação do trabalho em periódico de impacto, seria necessário que os pacientes fossem reavaliados pelos seus respectivos médicos para que se possa complementar os seus quadros clínicos e dismorfias. Realizar o exame de array CGH dos genitores dos pacientes também seria relevante para avaliar o risco de recorrência da deleção, uma vez que é provável que todos os portadores da microdeleção venham a sofrer algum comprometimento pela mesma. Esta informação também complementaria os dados sobre o mecanismo de origem da deleção nos pacientes afetados, se herdada ou *de novo*. E quando herdada, se é herdada da mãe ou do pai.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAMSON, Brett S; GESCHWIND Daniel H. **Advances in autism genetics: on the threshold of a new neurobiology.** Nat Rev Genet. 2008; 9:341–55.

BALLIF, Blake C. et al. **Discovery of a previously unrecognized microdeletion syndrome of 16p11.2–p12.2.** Nature genetics. 2007.

BIJLSMA EK et al. **Extending the phenotype of recurrent rearrangements of 16p11.2: deletions in mentally retarded patients without autism and in normal individuals.** Eur J Med Genet. 2009

BUSÈ, Martina. et al. **16p11.2 microdeletion/micruduplication syndrome: Further characterization of a critical region for neuropsychiatric development.** Acta Medica Mediterranea, 2013, 29:241.

CAPPUCCIO, Gerarda. et al. **New insights in the interpretation of array-CGH: autism spectrum disorder and positive family history for intellectual disability predict the detection of pathogenic variants.** Italian Journal of Pediatrics. 2016.

CARRASCO-RAMIRO et al. **Human genomics projects and precision medicine.** Gene Therapy. 2017

CARVALHO Claudia; LUPSKI James R. **Mechanisms underlying structural variant formation in genomic disorders.** Nature Reviews: Genetics. 2016.

CASPERSON T; ZECH L; MODEST E.J. 1970. Fluorescent labeling of chromosomal DNA: superiority of quinacrine mustard to quinacrine. Science 170:762.

COOK, E. H.; SCHERER, S. W. **Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions.** Nature, v. 455, n. October, p. 919–923, 16 out. 2008.

CÔRREA, Marilena. **The brave New Human Genome Project.** 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-733120020002000006>. Acesso em: 11/09/2017.

CREPEL, A. et al. **Narrowing the critical deletion region for autism spectrum disorders on 16p11.2. (Letter)** Am. J. Med. Genet. 156B: 243-245, 2010.

D'AMBROSIO, Valentina. et al. **Role of Array CGH in the diagnosis of autosomal recessive disease: a case of Ellis–van Creveld syndrome.** Prenat Diagn, 2014.

ESCAMILLA et al. **Kctd13 deletion reduces synaptic transmission via increased RhoA**. Nature 551, 227-231. 2017.

ESTADOS UNIDOS. Departamento de Saúde e Serviços Humanos. Biblioteca Nacional de Medicina. **16p11.2 deletion syndrome**. Disponível em: <<https://ghr.nlm.nih.gov/condition/16p112-deletion-syndrome#resources>> Acesso em: 12/09/2017.

EVANGELIDOU, Paola. et al. **Implementation of High Resolution Whole Genome Array CGH in the Prenatal Clinical Setting: Advantages, Challenges, and Review of the Literature**. Biomed Res Int, 2013:346762; 2013.

FERNANDEZ, B. A. et al. **Phenotypic spectrum associated with de novo and inherited deletions and duplications at 16p11.2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder**. J. Med. Genet. 47: 195-203, 2010.

GHEBRANIOUS N. et al. **A Novel Microdeletion at 16p11.2 Harbors Candidate Genes for Aortic Valve Development, Seizure Disorder, and Mild Mental Retardation**. American Journal of Medical Genetics. 2007.

GODRIM, José; MATTE, Úrsula. **Projeto Genoma Humano (Hugo)**. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/bioetica/genoma.htm>>. Acesso em: 09/09/2016.

GOLZIO et al. **KCTD13 is a major driver of mirrored euroanatomical phenotypes of the 16p11.2 copy number variant**. Nature 485: 363-367, 2012

GRIFFITHS et al. **Introdução a Genética**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008

HANSON, et al. **Cognitive and behavioral characterization of 16p11.2 deletion syndrome**. Journal of developmental and behavioral pediatrics. 2010.

HERNANDO, C et al. **Comparative genomic hybridisation shows a partial de novo deletion 16p11.2 in a neonate with multiple congenital malformations**. Journal of Medical Genetics. 2002.

HERON S. et al. **PRRT2 mutations cause benign familial infantile epilepsy and infantile convulsions with choreoathetosis syndrome**. Am J Hum Genet. 2012.

JACQUEMONT, S. et al. **Mirror extreme BMI phenotypes associated with gene dosage at the chromosome 16p11.2 locus**. Nature 478, 97–102. 2011.

JONHS HOPKINKS University. **OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man**. Disponível em: <<https://www.omim.org/>>. Acesso em: 09/09/2016.

KALLIONIEMI, Anne. et al. **Comparative Genomic Hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors**. Science, 258(5083):818-821; 1992.

KUMAR et al. **Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism**. Human Molecular Genetics. 2007.

LAY-SON, G. et al. **Chromosomal microarrays testing in children with developmental disabilities and congenital anomalies**. Jornal de Pediatria, v. 91, n. 2, p. 189–195, 2015.

LORAIN, S. et al. **Core histones and HIRIP3, a novel histone-binding protein, directly interact with WD repeat protein HIRA**. Molec. Cell. Biol. 18: 5546-5556, 1998.

MATOSO, Eunice Maria R. de C; **Desequilíbrios genômicos nas patologias do desenvolvimento e do comportamento**. Universidade de Coimbra, 2014.

MILLER, David T.; **16p11.2 Recurrent Microdeletion**. Gene Reviews. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11167/>> Acesso em: 09/09/2016.

MIGLIAVACCA E, et al. **A potential contributory role for ciliary dysfunction in the 16p11.2 600 kb BP4-BP5 pathology**. Am J Hum Genet. 2015;96:784–96, 2015.

ORITA, S., et al. **Doc2: a novel brain protein having two repeated C2-like domains**. Biochem. Biophys. Res. Commun. 206: 439-448, 1995.

PEREIRA, R. R. et al. **Screening for intellectual disability using high-resolution CMA technology in a retrospective cohort from Central Brazil**. PLoS ONE, v. 9, n. 7, p. e103117, 25 jul. 2014.

RETTNER, K. et al. **Assessing copy number from exome sequencing and exome array CGH based on CNV spectrum in a large clinical cohort**. Genetics in Medicine, v. 17, n. 8, p. 623–629, 6 ago. 2015.

RIGGS, E. R.; LEDBETTER, D. H.; MARTIN, C. L. **Genomic Variation: Lessons Learned from Whole-Genome CNV Analysis.** Current Genetic Medicine Reports, v. 2, n. 3, p. 146–150, 2014.

RODÀ, Diana et al. **Variabilidad fenotípica en 6 casos de delección 16p11.2.** Anales de pediatra. 2017.

ROSENFELD, Jill. **Speech delays and behavioral problems are the predominant features in individuals with developmental delays and 16p11.2 microdeletions and microduplications.** Journal of neurodevelopmental disorders. 2010.

SHARP et al., **Segmental Duplications and Copy-Number Variations in the Human Genome.** American journal of human genetics. 2005.

SCHALOCK, Robert L. et al. **Intellectual Disability: Definition, Classification, and Systems of Supports.** 11. Ed. Washington, DC: American Association on Intellectual and Developmental Disabilities, 2010.

SHAW CJ; Bi W; Lupski JR. **Genetic proof of unequal meiotic crossovers in reciprocal deletion and duplication of 17p11.2.** Am J Hum Genet 71:1072–1081, 2002.

SHIMOJIMA, K. et al. **A familial 593-kb microdeletion of 16p11.2 associated with mental retardation and hemivertebrae.** Europ. J. Med. Genet. 52: 433-435, 2009.

SHINAWI, M. et al. **Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioural problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size.** J. Med. Genet. 47: 332-341, 2015.

STEINMAN et al. **16p11.2 deletion and duplication: characterizing neurologic phenotypes in a large clinically ascertained cohort.** American Journal of Medical Genetics. 2016.

TRASK, Barbara J. **Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping.** Trends in Genetics, 7(5):149-154; 1991.

VIANNA, G.S; et al. **Array-CGH analysis in patients with intellectual disability and/or congenital malformations in Brazil.** Genetics and Molecular Research; 2016.

WEISS, Lauren A. et al. **Association between Microdeletion and Microduplication at 16p11.2 and Autism.** The New England Journal of Medicine 2008; 358:667-675. 2008.

WU et al. **TBX6 null variants and a common hypomorphic allele in congenital scoliosis.** 2015.

ZUFFEREY, Flore et al. **A 600 Kb deletion syndrome at 16p11.2 leads to energy imbalance and neuropsychiatric disorders.** 2012.



ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CCB - Laboratório de Neurogenética do Desenvolvimento

FORMULARIO CLÍNICO

FICHA CLÍNICA DE PACIENTES ENCAMINHADOS PARA ARRAY-CGH

1. Número do Array-CGH _____ 2. Faixa etária do Paciente _____

3. Sexo () Masculino () Feminino

4. Peso _____ kg 5. Estatura- _____ cm 5.1 () Crescimento longilíneo

4.1 () Obesidade 5.2 () Baixa estatura

4.2 () Baixo peso 5.3 () Crescimento Anormal

Obs-

6. HISTÓRIA PERINATAL

6.1 () Prematuridade 6.2 () Crescimento intra uterino restrito (CIUR)

6.3 () Artéria Umbilical única 6.4 () Oligoidrâmnio 6.5 () Polidrâmnio

6.6 () Asfixia Neonatal

6.7 Teste do Pézinho () Sim () Não Qual? () Básico () Ampliado ()
Expandido

() Alterado _____

7. EXAMES

7.1 () Cariótipo- () Normal () Alterado

7.2 () FISH- () Normal () Alterado

7.3 () Metilação do DNA, Prader-Willi/Angelmann-
() Normal () Alterado

7.4 () X-frágil () Normal () Alterado

Obs:

7.5 () Metabólicos () Normal () Alterado

7.6 () CGHarray () Normal () Alterado

8. Presença conhecida de casos de **DI** na família () Não () Sim. Descrever detalhes/parentesco no verso.

9. Presença conhecida de casos de **Transtorno psiquiátrico** na família () Não () Sim

10. Presença conhecida de casos de **Anomalias Congênitas** na família () Não () Sim

11. NEUROLÓGICO

11.1 () Ataxia 11.2 () Distonia 11.3 () Coreia 11.4 () Hipotonia

11.5 () Defeito no Tubo Neural 11.6 () Convulsões _____

11.7 () Estrutura Cerebral Anormal- _____

11.8 Outros _____

12. MUSCULOESQUELÉTICO

12.1 () Escoliose 12.2 () Hérnia Diafragmática 12.3 () Anomalia Vertebral Qual? _____

12.4 () Anomalias Membros Superiores Qual? _____

12.5 () Anomalias Membros Inferiores Qual? _____

12.6 Mãos () Polidactilia () Sindactilia uni ou bilateral, dedos envolvidos? _____

12.7 Pés () Polidactilia, () Sindactilia uni ou bilateral, dedos envolvidos? _____

12.8 Outros- _____

13. DESENVOLVIMENTO FÍSICO E MOTOR

13.1 () Atraso no desenvolvimento não especificado 13.2 () Atraso motor grosseiro

13.3 () Atraso motor fino 13.4 Outros _____ ~

14. NEURODESENVOLVIMENTO

14.1 () Atraso de Desenvolvimento Neuropsicomotor (abaixo de 5 anos)

14.2 () Atraso de Fala 14.3 () Dificuldade de aprendizado apenas

14.4 () Deficiência Intelectual () Leve () Moderada () Severa

14.5 () Epilepsia

14.6 Outros _____

15.COMPORTAMENTAL

15.1 () Autismo 15.2 () Síndrome de Asperger 15.3 () Transtorno Obsessivo Compulsivo

15.4 () Esquizofrenia 15.7 () TDAH 15.5 () Déficit de Atenção sem hiperatividade

15.8 Outros _____

16.DISMORFIAS

16.1 () Dismorfias Não Específicas _____

16.2 () Dismorfias Faciais- () Face Assimétrica () Grosseira () Pequena
() Estreita () Alongada () Ampla () Quadrada () Plana () Triangular
() Hipoplasia Maxilar () Outros _____

16.3 () Lábio Leporino 16.4 () Fenda Platina

16.5 Cranio- () Craniosinostose () Macrocefalia () Microcefalia ()
Plagiocefalia () Braquicefalia 16.8 () Orelhas-

16.9 () Olhos- () Hipertelorismo () Hipotelorismo () Epicanto () Cílios
invertidos () Fenda ocular oblíqua para cima () Fenda ocular oblíqua para baixo
() Outros (coloração, manchas,
etc.) _____

16.10 () Boca/Lábios- _____

16.11 () Testa- _____

16.12 () Sobrancelha- _____

16.13 () Nariz- _____

16.14 () Cabelo- _____

16.15 Circunferência da Cabeça- _____ cm

16.16 () Outros- _____

17.CARDÍACO

17.1 () Defeito Do Septo Atrial 17.2 () Defeito Do Septo Ventricular

17.3 () Tetralogia de Fallot 17.4 () Coarctação da aorta

17.5 () Outra Anomalia/Malformação
Cardíaca_____

18.GASTROINTESTINAL

18.1 () Gastrosquíse 18.2 () Estenose Pilórica 18.3 () Onfalocele
18.4 () Megacólon 18.5 () Outra Anomalia ou Malformação Gastrointestinal-

19.GENITURINÁRIO

19.1 () Genitália Ambígua 19.2 () Malformação Renal
19.3 () Hipospádia 19.4 () Hidronefrose
19.5 () Obstrução Uretral 19.6 () Genitália Externa Anormal
19.7 () Outra Anomalia ou Malformação Genital-

20. () ANORMALIDADES ENDÓCRINAS-

21.CUTÂNEO

21.1 () Hiperpigmentação 21.2 () Hipopigmentação 21.3 () Hemangioma
21.4 Outros (nevus, sardas, manchas café-au-lait)-

22. ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS_____

23. USO DE MEDICAMENTO CONTROLADO- () Não () Sim

24. MOTIVO DO ENCAMINHAMENTO-

Responsável pela coleta_____

Médico-_____

Local-_____

Data- ____/____/____

OUTRAS OBSERVAÇÕES